

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Utjecaj estrogena na rak dojke

Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer

SEMINARSKI RAD

Martina Žarak
Preddiplomski studij Molekularne biologije
Mentor: doc.dr.sc. Inga Marijanović

Zagreb, 2011.

SADRŽAJ

SADRŽAJ	1
1. UVOD.....	2
2. RAK DOJKE.....	3
2.1. ŠTO JE RAK?	3
2.2. EPIDEMIOLOGIJA RAKA DOJKE	3
2.3. ETIOLOGIJA I ČIMBENICI RIZIKA	4
2.4. PATOLOGIJA I KLASIFIKACIJA RAKA DOJKE.....	5
2.4.1. HISTOPATOLOŠKI TIPOVI RAKA DOJKE	6
2.4.2. STUPANJ DIFERENCIRANOSTI RAKA DOJKE.....	9
2.4.3. STADIJ RAKA DOJKE.....	9
2.4.4. STATUS RECEPTORA.....	11
3. ESTROGENI.....	12
3.1. ŠTO SU ESTROGENI?	12
3.2. BIOSINTEZA ESTROGENA.....	12
3.3. FUNKCIJA ESTROGENA	13
3.4. ESTROGENSKI RECEPTORI	14
4. UTJECAJ ESTROGENA NA RAZVOJ RAKA DOJKE.....	17
4.1. PROLIFERATIVNI UČINAK	18
4.2. MUTAGENI UČINAK	20
4.3. UTJECAJ EGZOGENIH HORMONA	22
4.3.1. ORALNI KONTRACEPTIVI	22
4.3.2. HORMONSKO NADOMJESNO LIJEČENJE	22
4.4. HORMONSKA KEMOPREVENCIJA I LIJEČENJE RAKA DOJKE	25
4.4.1. TAMOXIFEN	25
4.4.2. INHIBITORI AROMATAZE	26
4.4.3. CILJANA TERAPIJA	27
5. ZAKLJUČAK.....	28
6. LITERATURA	29
7. SAŽETAK	32
8. SUMMARY.....	33

1. UVOD

Rak dojke nastaje kada normalne epitelne (karcinom) ili žljezdane (adenokarcinom) stanice dojke promijene svoja svojstva te počnu nekontrolirano rasti, umnožavati se i uništavati okolno zdravo tkivo. Brojna istraživanja već se desetljećima bave povezanošću raka dojke s endogenim i egzogenim steroidima, estrogenima i progesteronom, ističući izloženost estrogenima kako najvažniji rizični faktor za razvoj raka dojke. Utjecaj hormona na karcinogenezu dokazan je osim u slučaju raka dojke i kod raka endometrija maternice, jajnika te prostate, testisa i štitne žlijezde. Estrogeni su ženski spolni hormoni koji imaju višestruku ulogu u razvoju i funkciji ženskog reproduktivnog sustava. Djeluju kao signalne molekule tako što putuju krvotokom do ciljnih stanica u koje ulaze pasivno i zatim se vežu za specifične receptore unutar stanica što rezultira promijenjenom ekspresijom gena. Predložena su dva mehanizma putem kojih estrogen povećava rizik od razvoja raka dojke koja vjerojatno djeluju sinergistički u procesima inicijacije i progresije raka dojke. Osim proliferativnog modela prema kojem poticanjem stanične proliferacije u tkivu dojke estrogeni omogućavaju nastanak mutacija koje promoviraju razvoj raka, utvrđen je i mutageni učinak estrogena kao posljedica genotoksičnosti estrogena i njegovih metabolita. Povezanost raka dojke s estrogenom u novije vrijeme ima važnu ulogu u detaljnoj klasifikaciji koja je ključni faktor u odabiru individualnog, najprikladnijeg načina liječenja.

Rak dojke je, uz rak pluća i rak debelog crijeva, najčešća i najsmrtonosnija vrsta raka koja pogađa uglavnom žensku populaciju razvijenih zemalja. Upravo zato velika važnost pridaje se istraživanju mehanizama nastanka raka dojke što bi omogućilo utvrđivanje determinanti koje povećavaju rizik od oboljenja i razvoj novih, uspješnijih metoda prevencije i liječenja. U ovom radu pokušat ću sažeti i istaknuti važna dosadašnja saznanja o povezanosti estrogena i raka dojke i ukazati na postojeće probleme i mogućnosti napretka.

2. RAK DOJKE

2.1. ŠTO JE RAK?

Rak (maligna neoplazma ili tumor) je skup većeg broja bolesti koje pogađaju odvedenije višestanične organizme, a nastaju kao posljedica abnormalnog rasta stanica uzrokovano višestrukim promjenama u ekspresiji gena koje rezultiraju poremećenom ravnotežom između proliferacije i smrti stanica te razvojem populacije stanica koja invadira u okolna tkiva i može metastazirati u regionalne limfne čvorove ili udaljena tkiva uzrokujući stanje bolesti i konačno smrt organizma (Ruddon 2007). Osnovne karakteristike prema kojima razlikujemo maligne (zloćudne) od benignih tumora su nekontrolirani rast i invazija u okolna tkiva te sposobnost metastaziranja putem krvotoka ili limfnog sustava (Schulz 2005).

Karcinogeneza, odnosno razvoj raka je kompleksan proces koji je s jedne strane uvjetovan okolišnim čimbenicima, a s druge nasljednim faktorima. Rak je genetička bolest koja nastaje kao posljedica genetičkih promjena (najčešće mutacija), odnosno poremećaja u genima koji reguliraju rast stanica i diferencijaciju, prvenstveno onkogenima i tumor supresor genima, što dovodi do razvoja tumorskih stanica (Ruddon 2007). Ovaj proces samo je prvi korak u razvoju nakupine tumorskih stanica, neoplazme te stanja bolesti. Budući da je rak, iza kardiovaskularnih bolesti, najčešći uzrok smrti kod ljudi velika važnost pridaje se istraživanju postanka, prevencije i razvoju novih, uspješnijih metoda liječenja.

2.2. EPIDEMIOLOGIJA RAKA DOJKE

Rak dojke je, uz rak pluća i rak debelog crijeva, najčešća i najsmrtonosnija vrsta raka koja pogađa uglavnom žensku populaciju razvijenih zemalja (učestalost iznosi između 9 i 11%) (Margaritoni 1993, Schulz 1005). Izrazito osjetljiva skupina su žene u menopauzi (iznad 50 godina) iako postoji velik broj slučajeva mladih žena oboljelih od raka dojke (Margaritoni 1993). Prema podacima Registra za rak Hrvatske (Hrvatski zavod za javno zdravstvo) godišnje u Hrvatskoj od raka dojke obolijeva oko 2300 žena, a umire više od 800. U Hrvatskoj je 18. listopada 2006. počela provedba nacionalnog programa prevencije raka dojke u kojem su sve žene u dobi 50 do 69 godina pozvane na preventivni mamografski pregled. Cilj programa je smanjiti smrtnost od raka dojke za najmanje 25%. Od raka dojke mogu oboljeti i muškarci, ali je rak dojke stotinu puta češći kod žena, nego u muškaraca (Margaritoni 1993).

2.3. ETIOLOGIJA I ČIMBENICI RIZIKA

Etiološki čimbenici odgovorni za nastanak raka dojke nisu potpuno poznati, no epidemiološka evidencija ukazuje na tri moguće skupine genetičkih, endokrinih i okolišnih čimbenika. Genetičke promjene koje uzrokuju razvoj raka dojke prema Melchor i Benitez iz 2008. su:

- 1) aktivacija protoonkogen (HER-2/neu)
- 2) inaktivacija (gubitak ili mutacija) tumor supresor gena (BRCA1 i BRCA2)
- 3) inaktivacija gena odgovornih za popravak oštećene DNA

Čak 80% slučajeva uzrokovano nasljednim promjenama povezano je sa mutacijama u genima BRCA1 i BRCA2 (Melchor i Benitez 2008, Schulz 2005). U normalnim stanicama ovi geni kodiraju za proteine koji osiguravaju normalan rast stanica sudjelujući u popravku DNA i održanju genomskog integriteta, dakle djeluju kao tumor supresor geni (Ruddon 2007). Naslijeđene mutacije u ovim genima u slučaju kada je u drugoj kopiji gena također došlo do mutacije dovode do razvoja raka dojke u ranijoj dobi, često bilateralno, a za posljedicu imaju i povećanu sklonost drugim vrstama raka kao što je rak jajnika (Ruddon 2007). Također je poznato da naslijeđene mutacije u još nekim genima utječu na razvoj raka dojke, u nešto manjoj mjeri: ATM, p53 (Li-Fraumeni sindrom), CHK2 (Li-Fraumeni sindrom), PTEN (Cowden sindrom) (Ruddon 2007).

Endokrini čimbenici su povezani s endogenim hiperestrogenizmom, a egzogeni unos se dovodi u vezu s uzimanjem oralnih kontraceptiva (OK) i hormonskim nadomjesnim liječenjem (HNL). Velika učestalost pojave raka dojke u razvijenim zemljama povezana je s modernim načinom života što ukazuje na učinak okolišnih čimbenika na razvoj raka dojke (Ruder i sur. 2008, Schulz iz 2005, Wolff i Weston 1997), prvenstveno:

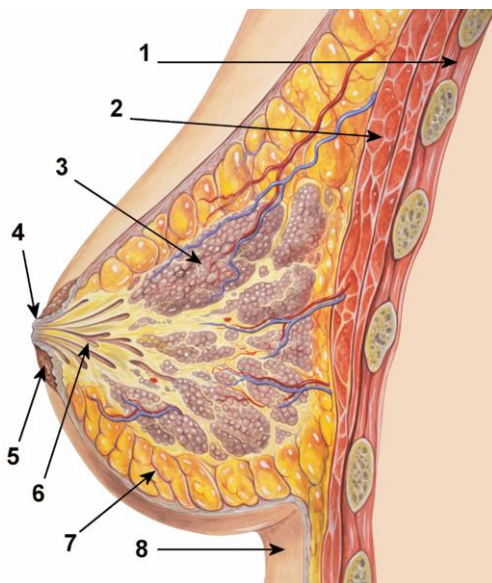
- 1) izloženost estrogenu, odnosno duljina trajanja generativnog razdoblja: ranija menarha i kasnija menopauza, mali broj poroda i kasna dob pri rađanju prvog djeteta povećavaju ukupni broj ovulacijskih ciklusa. Ovaj rad fokusira se detaljnije na povezanost i mehanizme utjecaja estrogena kao ključan okolišni faktor u razvoju raka dojke.
- 2) prehrana i fizička aktivnost (kod žena u menopauzi poveznica je prisutnost aromataze u masnom tkivu što dovodi do povećane proizvodnje estrogena i poticanja rasta epitelnih stanica dojke; kod premenopauznih žena pretilost dovodi do poremećaja u menstrualnom ciklusu i nedostatka progesterona; fizička aktivnost smanjuje broj ovulacijskih ciklusa)

- 3) ionizirajuće zračenje tijekom razvoja dojki (npr. atomska bomba bačena na Hirošimu i Nagasaki značajno je povećala pojavu raka dojke na tom području nakon latentnog perioda od oko 20 godina; najveća incidencija je opažena kod žena koje su u trenutku eksplozije imale 10 do 14 godina, a do dijagnoze raka dojke dolazilo se najčešće kada su one imale između 30 i 49 godina)
- 4) alkohol, pušenje (utječe na razinu i metabolizam estrogena)

2.4. PATOLOGIJA I KLASIFIKACIJA RAKA DOJKE

Rak dojke nastaje kad normalne epitelne (karcinom) ili žljezdane (adenokarcinom) stanice dojke promjene svoja svojstva te počnu nekontrolirano rasti, umnožavati se i uništavati okolno zdravo tkivo.

Dojka je građena od epitelnog, žljezdanog i potpornog tkiva (Sl. 1.). Žljezdano tkivo čine mliječne žlijezde (lobuli) i mliječni kanali (duktusi), a potporno čini masno i vezivno tkivo. Najveći broj karcinoma dojke javlja se u gornjem vanjskom kvadrantu i izdancima žljezdanog tkiva usmjerenim prema aksili (pazušnoj jami) (Kopans 2007, Margaritoni 1993). Zloćudni tumori dojke najčešće su epitelnog porijekla (karcinomi) (Margaritoni 1993). Mogu nastati iz epitela kanalića (90%) ili epitela režnjića (10%), a oba se dijele na neinvazivne (Sl. 2.a) tj. one koji nisu probili bazalnu membranu (neinfiltrirajući *in situ*) te na invazivne (Sl. 2.b), one koji su probili bazalnu membranu (infiltrirajući) (Fischer i sur. 2008, Kopans 2007).



Slika 1. Građa dojke: 1-Grudni koš; 2-Grudni mišić; 3-Mliječne žlijezde; 4-Bradavica; 5-Areola; 6-Mliječni kanali; 7-Masno tkivo; 8-Koža. Preuzeto sa <http://en.wikipedia.org/wiki/Breast>.

Postoji nekoliko sustava klasifikacije raka dojke, prema različitim kriterijima. Važnost raznolike i detaljne klasifikacije je u odabiru individualnog, najprikladnijeg načina liječenja. Najčešće se kao kriteriji koriste: histopatologija, stupanj diferenciranosti (gradus tumora), stadij tumora, status receptora te ekspresija određenih gena (Schnitt 2010). Dvije najčešće upotrebljavane klasifikacije su ona Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) (Tab. 1.) i klasifikacija Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) (Stenkvist i sur. 1983).

Tablica 1. WHO klasifikacija raka dojke.

Preuzeto i prilagođeno prema Scarff i Torloni 1968.

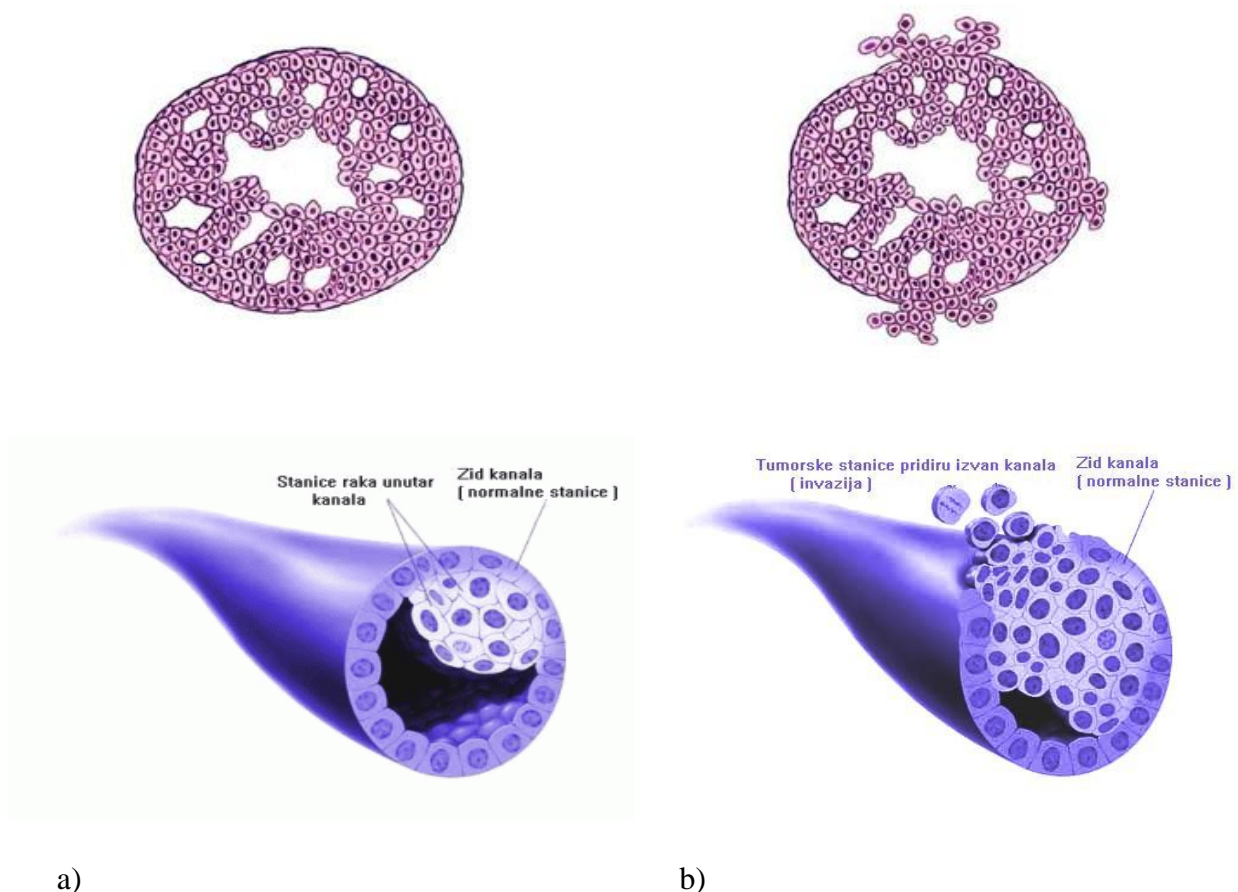
A. Neinvazivni
1. Intraduktalni karcinom
2. Intraduktalni papilarni karcinom
3. Lobularni karcinom in situ
B. Invazivni
1. Invazivni duktalni karcinom - bez posebnih karakteristika (Not otherwise specified - NOS)
2. Invazivni lobularni karcinom
3. Medularni karcinom
4. Koloidni karcinom (mucinozni karcinom)
5. Pagetova bolest
6. Tubularni karcinom
7. Adenoidni cistični karcinom
8. Invazivni komedo karcinom
9. Apokrini karcinom
10. Invazivni papilarni karcinom

2.4.1. HISTOPATOLOŠKI TIPOVI RAKA DOJKE

Histopatološka podjela temelji se na karakteristikama uzorka karcinoma koji se promatra pod svjetlosnim mikroskopom. Uključuje neinvazivne i invazivne karcinome. Osnovne karakteristike su sljedeće (Kopans 2007, Fischeru i sur. 2008):

- ✂ Duktalni karcinom in situ (DCIS ili IDCIS) najčešći je neinvazivni tip raka dojke. Zahvaća samo epitel malih i srednjih duktusa. Razlikujemo komedo, solidni, kribriformni, mikropapilarni i papilarni tip. Komedo i kribriformni su najagresivniji. Postoji mogućnost invazivnog rasta od 30-50% te se liječi poput invazivnog karcinoma.
- ✂ Lobularni karcinom in situ (CLIS) zahvaća epitel malenih terminalnih intralobularnih duktusa koji su prošireni i ispunjeni malignim stanicama. Razlikujemo tip A i tip B. Rjeđe dolazi do razvoja invazivnog karcinoma (tehnički radi se o stadiju 0 raka dojke) te su često multicentrični i bilateralni.

- Invazivni duktalni karcinom (NOS) je najčešći tip invazivnog raka dojke kao i raka dojke općenito. Nastaje u duktusima dojke od kuda se širi prema masnom tkivu dojke te može metastazirati. Može uzrokovati uvlačenje kože, retrakciju bradavice ili fiksaciju za prsnu stjenku. Histološki se vidi čvrsta vezivna stroma u kojoj se nalaze razbacana žarišta ili tračci tumorskih stanica. Na rubovima tumora vidljive su tumorske stanice kako infiltriraju okolno tkivo, često invadirajući perivaskularne i perineuralne prostore i krvne žile.
- Invazivni lobularni karcinom nastaje u lobulima dojke od kuda metastazira. Makroskopski je slabo omeđen i obično gumaste konzistencije. Histološki se vide tračci tumorskih stanica raspršeni po vezivnoj stromi. Tumorske stanice su većinom sitne i jednolične s malo polimorfizma.



Slika 2. a) Neinvazivni tip raka dojke. b) Invazivni tip raka dojke. Preuzeto sa <http://www.zanovidan.hr/vrste-raka-dojke/> i <http://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/invasive.jsp>.

Ostali tipovi invazivnog raka dojke rjeđi su:

- ✂ Tubularni karcinom je dobro diferencirani adenokarcinom, obično kao mala lezija, često manja od 1 cm. Često je u kombinaciji s intraduktalnim karcinomom (65% slučajeva). U manjoj mjeri metastazira.
- ✂ Medularni karcinom (carcinoma medullare) na opip je češće mekan i mesnat nego tvrd. Histološki, ima oskudnu stromu, tumorske stanice rastu sincicijalno u širokim nepravilnim poljima, uglavnom nediferencirane, rjeđe dobro diferencirane. Obično postoji limfocitna infiltracija.
- ✂ Koloidni (mucinozni) karcinom (carcinoma colloides seu mucinosum) karakterističan je po unutarstaničnom i izvanstaničnom stvaranju sluzi. Makroskopski se radi o mekanim, opsežnim i sivo-plavkastim čvorovima konzistencije želatine. Histološki postoje dvije slike tumora. U prvom obliku tumorske stanice vide se kao sitni otoci ili čak kao izolirane stanice koje plutaju u velikim jezerima bazofilne sluzi, koja teče u susjedne tkivne prostore. U drugom uzorku tumorske stanice rastu u dobro izraženim žljezdanim tvorbama, u čijim se lumenima nalazi sluzavi sekret.
- ✂ Pagetova bolest (morbus Paget) je posebni oblik duktusnog karcinoma dojke koji zahvaća žene u nešto starijoj životnoj dobi. Počinje kao tipični intraduktalni karcinom, ali zahvaća glavne izvodne kanale, odakle se širi da bi infiltrirao kožu bradavice i areolu. Histološka oznaka toga tumora je invazija epidermisa patognomonskim tumorskim stanicama nazvanim Pagetove stanice koje su krupne, hiperkromatične stanice okružene svijetlim krugom koji predstavlja intracelularnu nakupinu mukopolisaharida. Morfologija je slična intraduktalnom karcinomu i, usprkos širenju na kožu, ima povoljnu prognozu.

Najčešći histopatološki tip raka dojke je invazivni duktalni karcinom (čini preko 80% svih karcinoma dojke), zatim slijede, po učestalosti, invazivni lobularni (10%), pa medularni karcinom (5%) (Margaritoni 1993). Medularni karcinom je rjeđi u starijoj nego u mlađoj dobi, kao i mucinozni i papilarni rak.

2.4.2. STUPANJ DIFERENCIRANOSTI RAKA DOJKE

Histopatološko stupnjevanje raka dojke po Blom-Richardsonu prikazuje brzinu rasta invazivnog karcinoma preko mitotskog indeksa te citološke osobine diferenciranosti u usporedbi sa normalnih tkivom (Ruddon 2007) (Tab. 2).

Tablica 2. Histopatološko stupnjevanje (Grading) infiltrirajućeg dukalnog karcinoma po Blom-Richardsonu - Elstonova modifikacija.

Preuzeto i prilagođeno prema Bloom i Richardson 1957 te Elston i Ellis 1991.

Parametri za graduaciju
a) Formacije žljezdanih tubula i acinusa 1 bod izrazita formacija tubula (>75%) 2 boda umjerena formacija tubula (10-75%) 3 boda malo ili bez tubula (<10%)
b) Pleomorfizam jezgara karcinomskih stanica (nepravilnost u veličini, obliku i strukturi) 1 bod izomorfija jezgara 2 boda umjerena varijabilnost u veličini, obliku i strukturi jezgara 3 boda izraziti polimorfizam
c) Mitoze / 10 hpf 1 bod < 9 mitoza 2 boda 10-19 mitoza 3 boda >20 mitoza
Nakon sumiranja bodova svih parametara određuje se stupanj diferenciranosti po sljedećoj shemi:
G1 Dobro diferenciran (3-5 bodova) – najbolja prognoza G2 Umjereno diferenciran (6-7 bodova) G3 Slabo diferenciran (8-9 bodova) – najgora prognoza

2.4.3. STADIJ RAKA DOJKE

Utvrđivanje stadija raka dojke odnosi se na klinički i patološki stupanj proširenosti bolesti, a važno je za prognozu i odabir odgovarajućeg liječenja. Osnovu za klasifikaciju zloćudnih tumora, prema njihovoj rasprostranjenosti dao je Francuz Pierre Denoix. On je tumor (T) svrstao prema tome da li je zahvatio i regionalne limfne čvorove - čvorove (N), ili je već stvorio i udaljene metastaze (M). Zato je svoj sustav klasificiranja zloćudnih tumora nazvao TNM sustavom. Danas je prihvaćena TNM klasifikacija UICC (International Union against Cancer), koja je 1987. godine doživjela promjene u smislu približavanja UICC i AJC (American Joint Commission on Cancer Staging and End Results Reporting) (Ruddon 2007) (Tab. 3., Tab. 4.)

Tablica 3. TNM klasifikacija raka dojke.

Preuzeto i prilagođeno prema Sobin i sur. 2010.

Tx Primarni tumor se ne može dokazati
T0 Nepalpabilan tumor
Tis Preinvazivni rak (carcinoma in situ), neinfiltrirajući intraduktalni rak ili Pagetova bolest bradavice bez znakova tumora
T1 Tumor s najvećim promjerom do 2 cm
T1a Tumor s najvećim promjerom do 0,5 cm
T1b Tumor s najvećim promjerom između 0,5 i 1 cm
T1c Tumor s najvećim promjerom između 1 i 2 cm
T2 Tumor s najvećim promjerom između 2 i 5 cm
T3 Tumor s najvećim promjerom većim od 5 cm
T4 Tumor bilo koje veličine s direktnim širenjem na zid prsnog koša ili kožu (Zid prsnog koša obuhvaća: rebra, interkostalnu muskulaturu i musculus serratus anterior, ali ne i pektoralni mišić)
T4a Zahvaćen zid prsnog koša
T4b Edem, prožimanja ili ulceracija kože dojke (uključujući i peau d'orange) ili okolni kožni čvorići, u području iste dojke
T4c Obuhvaća T4a i T4b
T4d Upalni karcinom
PNx Regionalni limfni čvorovi se ne mogu odrediti
pN0 Reg. limfni čvorovi nisu zahvaćeni
pN1 Istostrani pazušni limfni čvorovi su zahvaćeni i pomični
pN2 Istostrani pazušni limfni čvorovi srasli međusobno ili na susjedne strukture
pN3 Zahvaćeni su istostrani unutrašnji limfni čvorovi unutar dojke
Mx Metastaze se ne mogu odrediti
M0 Nema dokaza udaljenih metastaza
M1 Udaljene metastaze (uključujući metastaze u istostrane supraklavikularne limfne čvorove)
pN1a mikrometastaze, manje od 0,2 cm
pN1b metastaze u jednom ili više limfnih čvorova veće od 0,2 cm
pN1bI metastaze u jednom do tri limfna čvora, veličine 0,2 do 2 cm
pN1bII metastaze u 4 ili više limfnih čvorova, veličine 0,2 do 2 cm
pN1bIII tumor prelazi kapulu limfnog čvora i manji je od 2 cm
pN1bIV metastaze u limfnom čvoru veličine 2 cm ili veće

Tablica 4. Stadiji raka dojke.

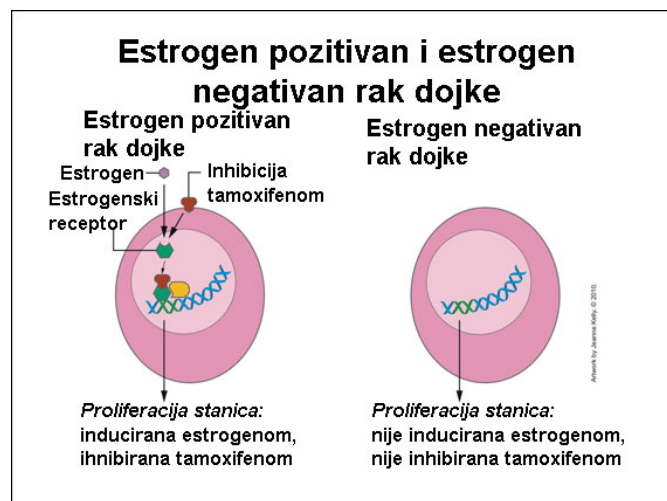
Preuzeto i prilagođeno prema Sobin i sur. 2010.

Stadij 0	Tis	N0	M0	Stadij IIIA	T0	N2	M0
Stadij I	T1	N0	M0		T1	N2	M0
Stadij IIA	T0	N1	M0		T2	N2	M0
	T1	N1	M0		T3	N1,N2	M0
	T2	N0	M0	Stadij IIIB	T4	Svi N	M0
Stadij IIB	T2	N1	M0		Svi T	N3	M0
	T3	N0	M0	Stadij IV	Svi T	Svi N	M1
Stadij IIIA	T0	N2	M0				
	T1	N2	M0				

2.4.4. STATUS RECEPTORA

Na površini normalnih stanica dojke nalaze se receptori za različite hormone i faktore rasta koji reguliraju rast stanica. Između ostalog to su receptori za estrogen (ER), progesteron (PR) i HER2/neu. U više od 70% slučajeva na površini stanica raka dojke također se nalaze ovi receptori što se utvrđuje imunohistokemijskim metodama te u novije vrijeme multi-genskim profilima ekspresije (Ruddon 2007, Schulz 2005). Ukoliko stanice sadrže estrogenske receptore ovaj tip raka dojke naziva se ER pozitivan (ER+), u suprotnom ER negativan (ER-) (Sl. 3.). Analogno vrijedi za PR+ i PR- te HER2+ i HER2- (Schnitt 2010). Važnost utvrđivanja statusa receptora je u određivanju načina liječenja budući da rast ER+ raka ovisi o estrogenu te se liječenje može bazirati na uklanjanju jajnika (žene u predmenopauzi) i lijekovima koji reduciraju utjecaj estrogena (tamoxifen) ili njegovu razinu (inhibitori aromataze) zbog čega ovaj tip ima najbolju prognozu (Schulz 2005). Lošiju prognozu ima tip HER+ budući da ove stanice sadrže veliku količinu HER2 promotora rasta. Ipak, ovaj tip pozitivno odgovara na liječenje monoklonskim protutijelima kao što su trastuzumab i lapatinib (Schnitt 2010). Veoma lošu prognozu ima trostruko negativan tip (ER-, PR- i HER2-). Novija klasifikacija raka dojke temelji se na molekularnim karakteristikama, prema Melchor i Benitez iz 2008 i Schnitt 2010:

- 👤 Luminalni A i luminalni B tipovi: ER+, sporog rasta. Ekspresija gena slična je onoj u normalnim stanicama. Tip A uglavnom ima dobru prognozu, tip B nešto lošiju.
- 👤 HER2 tip: HER2+, brzog rasta. Imaju lošu prognozu.
- 👤 Bazalni tip (trostruko-negativan): ER-, PR- and HER2-, brzog rasta. Loša prognoza.



Slika 3. Estrogen pozitivan (ER+) i estrogen negativan (ER-) rak dojke.

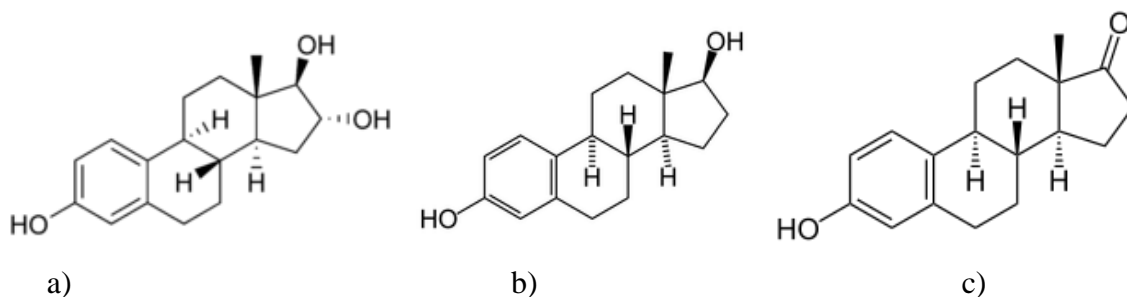
Preuzeto i prilagođeno prema <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors>.

3. ESTROGENI

3.1. ŠTO SU ESTROGENI?

Estrogeni su skupina steroidnih kemijskih spojeva, koja je naziv dobila zbog svoje važnosti u estrusu sisavaca odnosno menstruacijskom ciklusu kod žena. Estrogeni su ženski spolni hormoni koji imaju višestruku ulogu u razvoju i funkciji ženskog reproduktivnog sustava.

Prirodni estrogeni su steroidne molekule koje zahvaljujući nepolarnosti lako difuzijom prolaze kroz staničnu membranu u stanicu gdje se vežu za estrogenske receptore i utječu na ekspresiju gena (Fritz 2000, Korach 2004, Oettel i sur. 1999). Osnovni prirodni estrogeni su estron (E1), estradiol (E2) i estriol (E3) (Slika 4.). Estron dominira tijekom menopauze, estradiol tijekom menstruacijskog ciklusa, a estriol u trudnoći (Fritz 2000). Sintetski estrogeni nisu nužno steroidi (ksenoestrogeni) (Oettel 1999).



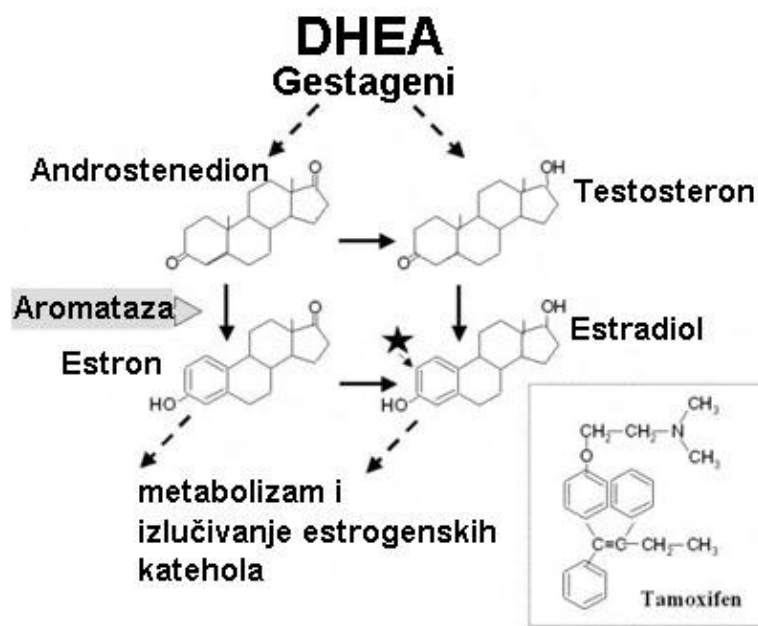
Slika 4. Kemijska struktura estrogena: a) estriol; b) estradiol; c) estron.

Preuzeto sa <http://en.wikipedia.org/wiki/Estrogen>.

3.2. BIOSINTEZA ESTROGENA

Estrogeni primarno nastaju tijekom razvoja folikula u jajnicima, u žutom tijelu (*corpus luteum*) i placenti. U manjoj mjeri do sinteze dolazi u jetri, nadbubrežnoj žlijezdi i grudima te u masnom tkivu, osobito kod žena u menopauzi (Fritz 2000). Sintezu estrogena u jajnicima potiče luteinizirajući hormon (LH) kojeg oslobađa hipofiza. Sinteza započinje u teka stanicama sintezom androstendiona iz kolesterola koji prelazi bazalnu membranu granulosa stanica i pretvara se u estron i zatim u estradiol, izravno ili preko testosterona što katalizira aromataza (Sl. 5.) (Fritz 2000). Tijekom menstruacijskog ciklusa razine estradiola variraju, a najviše su prije ovulacije.

Estriol je oksidacijski produkt estrona i estradiola. Razlika u kemijskoj strukturi estrogena nalazi se u broju ili vrsti kemijske skupine na D prstenu. "Triol" sadrži dvije hidroksilne skupine (-OH), "diol" jednu, a estron ima keto-skupinu (=O) na D prstenu (Korach 2004).



Slika 5. Sinteza estrogena. Struktura anti-estrogena Tamoxifena.

Preuzeto i prilagođeno prema Schulz 2005.

3.3. FUNKCIJA ESTROGENA

Estrogeni su ženski spolni hormoni koji imaju višestruku ulogu u razvoju i funkciji ženskog reproduktivnog sustava (Fritz 2000, Korach 2004):

👉 Utjecaj na spolni sustav:

- Potiču formiranje sekundarnih spolnih značajki žene
- Stimuliraju rast spolnih organa, tijekom menstruacijskog ciklusa potiču rast žlijezda endometrija i vezivne strome u maternici, a u jajovodu povećavaju broj i aktivnost stanica sa trepetljikama
- U dojčkama estrogeni potiču rast dojki i sustava za izlučivanje mlijeka (rast mliječnih žlijezda, vezivnog tkiva među njima i nakupljanje masti)

👉 Utjecaj na središnji živčani sustav:

- Estrogeni (zajedno sa progesteronom) inhibiraju oslobađanje FSH i LH iz hipofize (negativna povratna sprega). Za lučenje FSH i LH potreban je GnRH (gonadotropin oslobađajući hormon) iz hipotalamusa. Estrogen utječe i na razinu izlučivanja GnRH

♀ Utjecaj na ostala tkiva i organe:

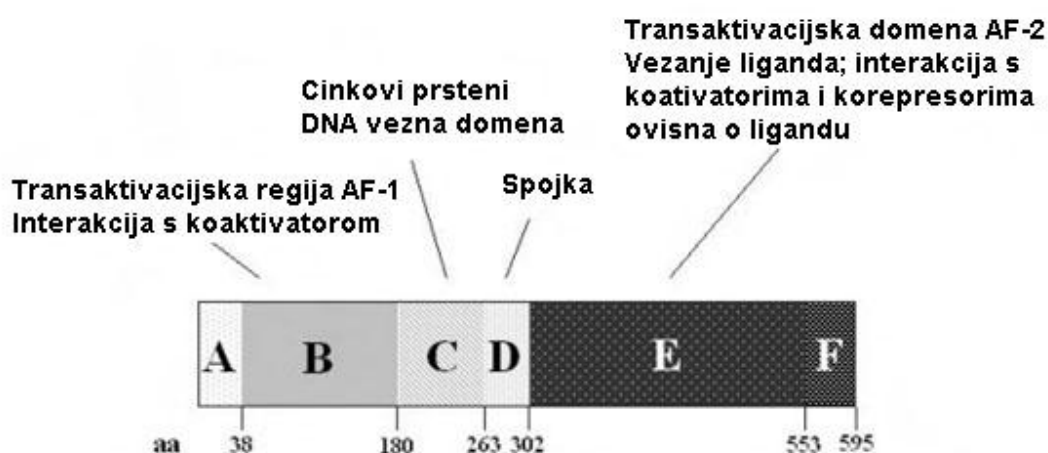
- Kostí - smanjuju koštanu resorpciju čime potiču stvaranje kosti
- Voda i elektroliti - uzrokuju zadržavanje natrija i vode u organizmu, zbog kemijske sličnosti sa hormonima nadbubrežne žlijezde
- Lipidi - povećavaju HDL (lipoprotein visoke gustoće), trigliceride, smanjuju LDL (lipoprotein male gustoće)
- Probavni sustav - povećavaju količinu kolesterola u žuči, a smanjuju pokretljivost crijeva
- Jetra - potiču sintezu proteina
- Koagulacija - povišuju razine faktora zgrušavanja, antitrombina III, plazminogena i povišuje adhezivnost trombocita
- Melanin - povišuju feomelanin, a snižava eumelanin
- Koža - estrogeni povećavaju debljinu kože i čine je glađom

Estrogeni su hormoni, dakle djeluju kao signalne molekule tako što putuju krvotokom do ciljnih stanica u koje ulaze pasivno i zatim se vežu za specifične receptore unutar stanica što rezultira promijenjenom ekspresijom gena. Primarni cilj estrogena su grudi i maternica iako oni djeluju i na mozak, kosti, jetru i srce (Fritz 2000). Funkcija estrogena posredovana je estrogenskim receptorima koji su eksprimirani samo u ciljnim tkivima (Fritz, 2000, Schulz 2005). Tkivno specifično djelovanje estrogena može biti posljedica različite ekspresije receptora, koaktivatora i korepresora i njihove regulacije, a omogućava diferencijalnu inhibiciju aktivnosti estrogena antagonistima SERM (selective receptor modulators) kao što je tamoxifen (Sl. 5.) koji blokira proliferaciju stanica dojke, a potiče istu u endometriju maternice (MacGregor i Jordan 2010, Osipo i Jordan 2004.). Njegovo djelovanje detaljnije je objašnjeno kasnije u tekstu.

3.4. ESTROGENSKI RECEPTORI

Estrogenski receptori pripadaju superporodici steroidnih hormonskih receptora koja uključuje velik broj DNA veznih proteina koji se aktiviraju različitim ligandima i kao homodimeri vežu za specifična simetrična vezna mjesta u DNA djelujući kao transkripcijski faktori (Schulz 2005). Razlikujemo dva tipa receptora čiji je ligand 17β -estradiol (estrogen): ER je intracelularni estrogenski receptor, dok je GPR30 (GPER) membranski receptor povezan s G-proteinom (Fritz 2000).

Postoje dvije forme ER, α ER i β ER (kodirani genima ESR1 i ESR2), slične primarne i strukturne građe (Sl. 6.) (Fritz 2000, Schulz 2005). Oboje sadrže pet domena: na N-kraju nalazi se A/B transaktivacijska domena (AF-1) neovisna o ligandu koja može potaknuti transkripciju, ali slabije i selektivnije od E transaktivacijske domene (AF-2) koja se nalazi na C-kraju i veže ligand (estrogen), kao i koaktivatore i korepresore. Domena C je DNA vezna domena koja sadrži dva cinkova prstena, a povezana je s E domenom putem domene D (Schulz 2005). α ER je eksprimiran prvenstveno u maternici, jetri, bubrezima i srcu, a β ER u jajnicima, prostati, plućima, probavnom sustavu, mjehuru i središnjem živčanom sustavu. Oboje su eksprimirani u velikom broju tkiva kao što su grudi, kosti, nadbubrežna i štitna žlijezda (Fritz 2000). β ER djeluje kao inhibitor α ER, dakle ima negativan utjecaj na staničnu proliferaciju, kao i progesteron vežući se za PR receptor u endometriju, dok u tkivu dojke djeluje ko-stimulativno (Schulz 2005).



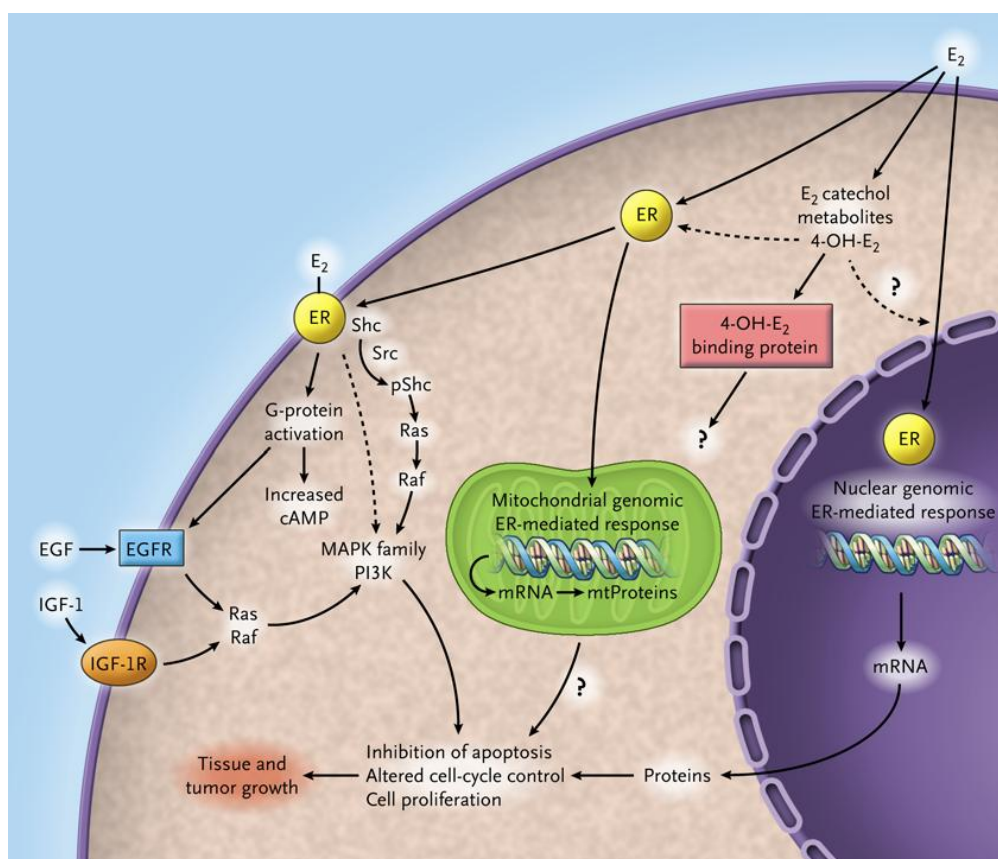
Slika 6. Struktura i funkcija domena estrogenskog receptora.

Preuzeto i prilagođeno prema Schulz 2005.

Inaktivni receptori nalaze se u citosolu te nakon vezanja liganda i konformacijske promjene odlaze u jezgru gdje se kao dimeri vežu za specifična vezna mjesta u DNA (ERE=estrogene response element) (Sl. 7). Preko AF-1 domene ostvaruje se interakcija sa koaktivatorima koji posreduju između receptora i transkripcijskog aparata te potiču acetilaciju i dekonenzaciju histona unutar veznog mjesta u DNA, kao i korepresorima čime se regulira ekspresija gena (Schulz 2005).

Alternativno receptor se ne mora vezati za DNA već ostvaruje interakciju sa drugim transkripcijskim faktorima kao što je AP1, modificirajući njihovu aktivnost (Schulz 2005). Također tirozin kinazni receptori za različite faktore rasta mogu aktivirati estrogenske receptore fosforilacijom u odsutnosti liganda (Yager i Davidson 2006) .

Utvrđena je prisutnost ER i u mitohondriju te plazma membrani (Yager i Davidson 2006). ER mogu asociirati s membranom putem caveolina-1 te stvarati komplekse s G proteinima, striatinom, receptorskim tirozin kinazama (EGFR, IGF-1) i nereceptorskim tirozin kinazama (Src). Putem striatina mogu povisiti razinu Ca^{2+} i dušikova oksida (NO). Putem receptorskih tirozin kinaza sudjeluju u aktivaciji različitih protein kinaza kao što su MAPK i povisuju unutarstaničnu razinu sekundarnih glasnika kao što je cAMP. Na taj način oponašanjem aktivacije MAPK kaskade estrogen samostalno ili sinergistički s faktorima rasta (EGF, IGF i TGF) potiče proliferaciju stanica (Sl. 7.) (Yager i Davidson 2006, Schulz 2005). Osim toga estrogen potiče samu sintezu faktora rasta (Schulz 2005).

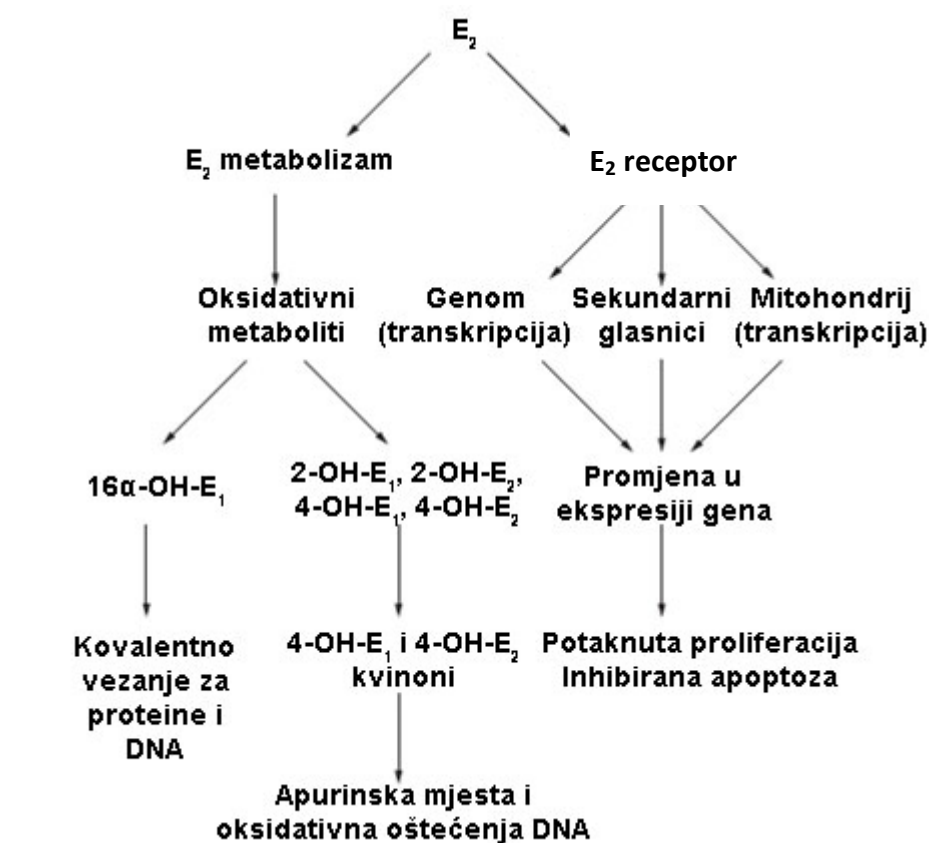


Slika 7. Signalni putovi estrogenskog receptora (detaljnije objašnjeno u tekstu).

Preuzeto od Yager i Davidson 2006.

4. UTJECAJ ESTROGENA NA RAZVOJ RAKA DOJKE

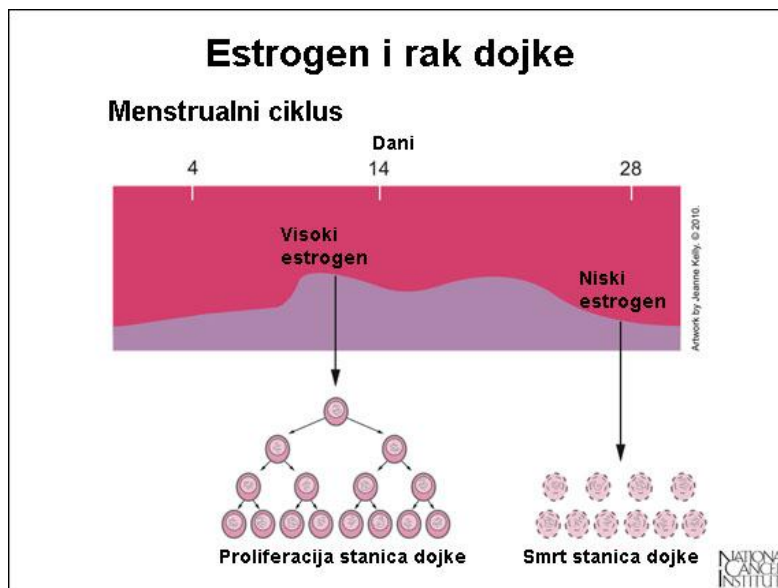
Brojna istraživanja već se desetljećima bave povezanošću raka dojke s endogenim i egzogenim steroidima, estrogenima i progesteronom, odnosno gestagenima. Razvoj karcinoma dojke očito je na neki način povezan sa estrogenima jer je isti gotovo ekskluzivan za žene, češći u adipoznih žena zbog povišenog estrona i niskog SHBG-a (sex hormone binding globulina) što povisuje slobodne estrogene (Schulz 2005). Češći je i u žena koje nisu rađale, koje su imale manje trudnoća ili su kasno zanijele (Ruddon 2007, Ruder i sur. 2008, Schulz 2005, Wolff i Weston 1997). Također, dokazano je kako antiestrogeni kao što su tamoxifen, raloxifen i inhibitori aromataze smanjuju učestalost raka dojke (MacGregor i Jordan 2010, Osipo i Jordan 2004, Santen i Harvey 1999). Izrazito zanimanje i raspravu potiče pitanje o utjecaju egzogenih hormona, kao što je oralna kontracepcija (OK) te hormonsko nadomjesno liječenje (HNL), na razvoj raka dojke. Predložena su dva mehanizma djelovanja koja vjerojatno djeluju sinergistički u procesima inicijacije i progresije raka dojke (Sl. 8.).



Slika 8. Mehanizmi kancerogeneze posredovane estrogenom (detaljnije objašnjeno u tekstu). E1 označava estron, E2 estradiol, 2-OH-E1 2-hidroksiestron, 2-OH-E2 2-hidroksiestradiol, 4-OH-E1 4-hidroksiestrone, 4-OH-E2 4-hidroksiestradiol, 16α-OH-E1 16α- hidroksiestron. Preuzeto i prilagođeno prema Yager i Davidson 2006.

4.1. PROLIFERATIVNI UČINAK

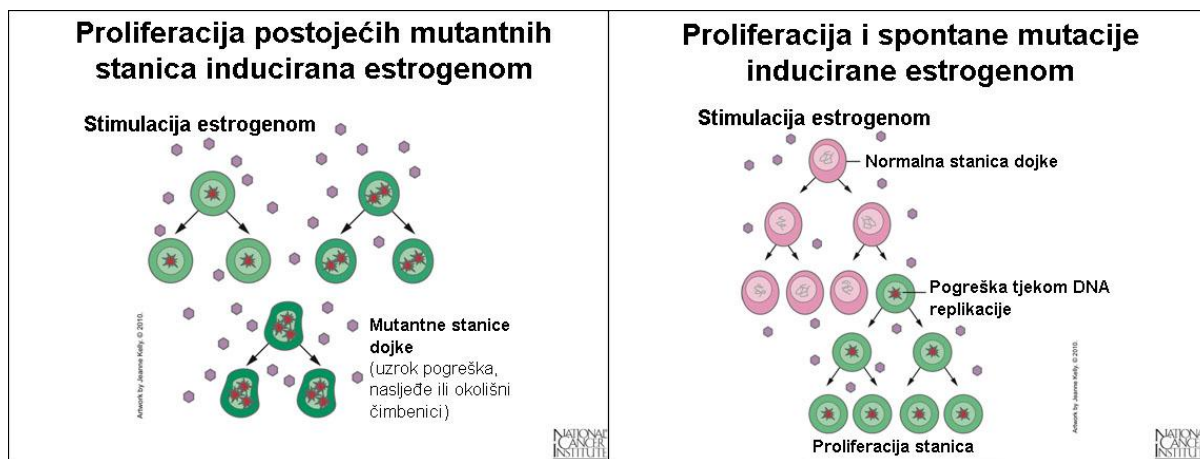
Tkivo dojke specifično je budući da ne sazrijeva u potpunosti do puberteta kada dolazi do proliferacije stanica koju reguliraju estrogeni iz jajnika kao i hormon rasta (Ruddon 2007). Tijekom menstruacijskog ciklusa dolazi do cikličke izmjene proliferacije i apoptoze stanica koju reguliraju estradiol i progesteron (Sl. 9.). Ciklus prekida trudnoća koju reguliraju estrogeni, progesteron, hormon rasta, inzulin, glukokortikoidi i prolaktin (Schulz 2005).



Slika 9. Uloga estrogena u menstruacijskom ciklusu.

Preuzeto i prilagođeno prema <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors>.

Povezanost proliferacije stanica potaknute endogenim i egzogenim steroidima, estrogenima i progesteronom i razvoja raka dojke je dokazana, a izloženost estrogenima (ranija menarha i kasnija menopauza, broj poroda i kasna dob pri rađanju prvog djeteta) istaknuta je kao važan rizični faktor za razvoj raka dojke (Yager i Davidson 2006, Bolton i Thacher 2008). U više od 70% slučajeva raka dojke prisutan je α ER receptor koji inducira PR gen i sintezu progesterona što ukazuje na ER+ tip raka dojke. U većini slučajeva ESR2 gen za β ER je utišan što potvrđuje njegov negativan utjecaj na staničnu proliferaciju (Schulz 2005). Utjecaj hormona na kancerogenezu dokazan je osim u slučaju raka dojke i kod raka endometrija maternice, jajnika te prostate, testisa i štitne žlijezde (Henderson i Feigelson 2000). Hormonalna kancerogeneza posljedica je učestalih dioba stanica potaknutih hormonima što omogućava nagomilavanje postojećih mutiranih stanica (Sl. 10.a) kao i povećava stopu pogrešaka tijekom replikacije što dovodi do novih spontanih genetičkih promjena i potencijalno do razvoja tumora (Sl. 10.b) (Yager i Davidson 2006, Henderson i Feigelson 2000.)



a)

b)

Slika 10. Utjecaj estrogena na razvoj raka dojke (detaljnije objašnjeno u tekstu).

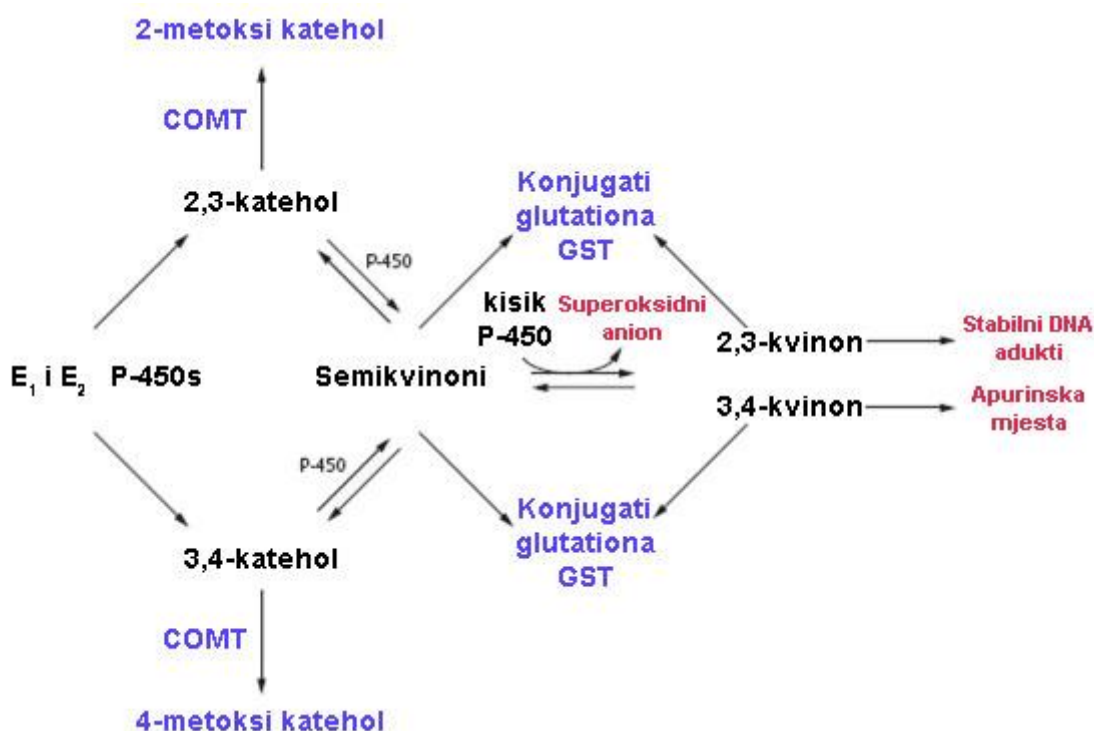
Preuzeto i prilagođeno prema <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors>.

Budući da je endogenu koncentraciju hormona teško modificirati istraživanja su usmjerena prema identifikaciji rizičnih biomarkera i specifičnih genotipova koji omogućavaju ranu detekciju, kao i prema prevenciji putem hormonalne kemoterapije. Specifični geni uključeni u progresiju raka uzrokovanog hormonalnom karcinogenezom nisu poznati no pretpostavlja se kako se radi o genima uključenim u sintezu i metabolizam hormona, kao i genima koji sudjeluju u popravku DNA, tumor supresor genima i onkogenima (Henderson i Feigelson 2000). Povezanost signalnog puta estrogenskih receptora i BRCA gena rezultira povećanim rizikom od raka dojke, a temelji se na činjenici da BRCA1 inhibira transkripcijsku aktivaciju estrogenskim receptorima i s time staničnu proliferaciju (Melchor i Benitez 2008). Prema jednom multigenomskom modelu visoki rizik od raka dojke rezultat je polimorfizma u ključnim genima koji sudjeluju u biosintezi i transportu estrogena: gen za 17 β -hidroksisteroid dehidrogenazu 1 (HSD17B1), citokrom P450c1 α (CYP17), aromatazu (CYP19) i estrogenski receptor (ER) (Henderson i Feigelson 2000).

4.2. MUTAGENI UČINAK

Osim proliferativnog modela utvrđen je i mutageni učinak estrogena kao posljedica genotoksičnosti estrogena i njegovih metabolita (Yager i Davidson 2006, Bolton i Thacher 2008, Okahashi i sur. 2010). Estradiol i estron su u stanicama metabolizirani oksidativnim mehanizmom putem citokrom P-450 enzima u 2-hidroksikatehol estrogen, koji ima benigni učinak, ili u 4-hidroksikatehol estrogen koji djeluje kancerogeno, a oksidacijom enzima ili metalnim ionom zatim u elektrofilni reaktivni estradiol-3,4-kvinon koji se veže kovalentno adicijom za adenin i gvanin što narušava stabilnost DNA molekule i rezultira apurinskim mjestima (Yager i Davidson 2006). Prilikom replikacije DNA dolazi do mutacija koje mogu dovesti do razvoja tumora. U odsutnosti nukleofila o-kvinoni izomeriziraju u kvinon metide (Bolton i Thacher 2008). Redukcija kvinona u redoks ciklusu sa semikvinonskim radikalima u hidrokvione i katehole omogućava stvaranje reaktivnih oksidativnih spojeva koji uzrokuju oksidativna oštećenja lipida i DNA kao što su jednolančani lomovi, nastanak 8-oko-dG, kromosomske abnormalnosti (Bolton i Thacher 2008). Velike količine ROS-a povezane su i sa metastaziranjem tumora (Malins i sur. 2006, Karihtala i Soini 2007). Reaktivni estrogenski metaboliti također inhibiraju redoks osjetljive enzime kao i estrogenske receptore i njihove koregulatore alkilacijom i oksidacijom (Bolton i Thacher 2008).

Detoksifikacijski putevi kao što su metilacija, sulfikacija i reakcija s glutationom aktivni su u tkivu dojki i štite ga od reaktivnih metabolita (Yager i Davidson 2006). Metilacijom katehola putem atehol O-metiltransferaze nastaje 2-metoksikatehol koji možda ima protektivnu ulogu (Sl. 11.). Dokazano je kako 4-hidroksiekvilenin, estrogen prisutan u hormonskim zamjenskim pripravcima, može autoksidirati u o-kvinon koji uzrokuje oksidativna oštećenja i apurinska mjesta, te inhibirati detoksifikacijske enzime kao što je glutation S-transferaza i katehol O-metiltransferaza (Bolton i Thacher 2008, Yager i Davidson 2006). Dakle reaktivni estrogenski metaboliti također povećavaju rizik od raka dojke inhibirajući detoksifikacijske reakcije te povećavaju rizik prilikom uzimanja HNL-a.



Slika 11. Oksidativni metabolizam estrogena putem katehola (detaljnije objašnjeno u tekstu).
Preuzeto i prilagođeno prema Yager i Davidson 2006.

Postoje dva čvrsta dokaza o sudjelovanju estrogenskih metabolita u inicijaciji i progresiji raka dojke. Kao prvo, genotoksičnost estrogena ovisi o njegovoj prisutnosti u tkivu dojke, a kod žena u menopauzi je utvrđena povišena koncentracija 10-50 puta u odnosu na krv, kao i veća koncentracija u malignom tkivu u odnosu na normalno. Također pronađeni su estrogenski metaboliti što dokazuje da se opisani metabolizam događa u tkivu dojke. Drugi dokaz je povezanost visokog rizika od raka dojke i polimorfizma u genima odgovornim za sintezu i metabolizam estrogena koja se još uvijek istražuje (Yager i Davidson 2006).

Nekoliko istraživanja potvrđuje kako razvoj raka dojke potaknut estrogenima nije nužno povezan s estrogenskim receptorima (Yue i sur. 2003, Russo i sur. 2003). Ipak, estrogenski receptori bi mogli sudjelovati u kancerogenzi uzrokovanoj estrogenskim metabolitima što objašnjava model Trojanskog konja. Prema ovom modelu reaktivni metaboliti vežu se za receptore koji ih odnose direktno do estrogen osjetljivih gena gdje dolazi do mutacija (Bolton i Thacher 2008).

4.3. UTJECAJ EGZOGENIH HORMONA

Egzogeni steroidni hormoni također potencijalno povećavaju rizik od razvoja raka dojke (Yager i Davidson 2006, Henderson i Spencer Feigelson 2000). Utjecaj oralnih kontraceptiva i hormonskog nadomjesnog liječenja, kao dva tipa najčešće egzogeno unesenih steroidnih hormona, najviše je proučavan.

4.3.1. ORALNI KONTRACEPTIVI

Sekvencijalni oralni kontraceptivi, koji uključuju unos isključivo estrogena, a zatim progesterona dokazano povisuju rizik dok kombinacijski, koji uključuju estrogen i velike doze progesterona snižavaju rizik od raka maternice. No, u slučaju raka dojke upotreba oralnih kontraceptiva povećava rizik budući da i estrogen i progesteron potiču proliferaciju stanica u tkivu dojke (Henderson i Feigelson 2000). Rizik je povećan samo kod trenutnih korisnica, kao i onih koje su nedavno prestale s upotrebom, dok 10 godina nakon prestanka više nema utjecaja. Dob u kojoj je upotreba započela također ima utjecaj, a osobito je rizična upotreba ispod 20. godine života. Ukupno vrijeme upotrebe nema utjecaj (Henderson i Feigelson 2000).

Analozi gonadotropin otpuštajućeg hormona (GnRHA) reverzibilno inhibiraju ovulaciju i reduciraju proizvodnju steroidnih hormona u jajnicima. Gonadotropin otpuštajući hormon stimulira otpuštanje luteinizirajućeg hormona (LH) koji zatim potiče oslobađanje estrogena u jajnicima. Ukoliko se razina GnRHA održava visokom receptori više ne reagiraju, ne dolazi do otpuštanja LH, a s time i estrogena (Ruddon 2007). Klinička ispitivanja usmjerena su prema otkriću mogu li ovi agensi djelovati kao kontraceptivi bez povećanog rizika od raka dojke.

4.3.2. HORMONSKO NADOMJESNO LIJEČENJE

Nedostatak estrogena kod žena u menopauzi može izazvati različite negativne učinke na zdravlje žene. Hormonsko nadomjesno liječenje (HNL) koristi se već duže vrijeme u svrhu olakšavanja simptoma menopauze kao što pospanost i nagle promjene raspoloženja te sprječavanja osteoporoze i razvoja raka debelog crijeva. Ipak, u novije vrijeme otkriveno je kako je upotreba HNL-a direktno povezana s povećanim rizikom od razvoja raka dojke i srčanih bolesti (Bolton i Thacher 2008, Henderson i Spencer Feigelson 2000, Yager i Davidson 2006).

Razlikujemo dva osnovna tipa hormonske terapije. Estrogensko nadomjesno liječenje koje uključuje samo estrogen propisuje se ženama sa histerektomijom. Istraživanja provedena tijekom 1980.-ih pokazala su kako kombinacija estrogena i progesterona može smanjiti rizik od raka maternice uzrokovanog unosom isključivo estrogena budući da u tkivu maternice ova dva

hormona djeluju antagonistički (Bolton i Thacher 2008, Ross i sur. 2000, Schulz 2005). Od tada se za liječenje žena sa maternicom koristi kombinacija estrogena i progestina (sintetski progesteron). No, istraživanje provedeno 2002. od strane Women's Health Initiative pokazalo je kako ova kombinacija nosi povećani rizik od razvoja raka dojke budući da progestrin potiče staničnu proliferaciju u tkivu dojke, kao i srčanih bolesti i plućnog embolizma (Tab. 6.). Također je pokazano kako estrogenska terapija povećava rizik od srčanih bolesti i plućne embolije (Tab. 5.) (Bolton i Thacher 2008, Ross i sur. 2000). Povećani rizik odnosi se samo na trenutne korisnice i raste s duljinom trajanja liječenja, kao i na one koje su s upotrebom prestale prije manje od 5 godina (Yager i Davidson, 2006, Henderson i Feigelson 2000).

Tablica 5. Utjecaj estrogenskog zamjenskog liječenja.

Preuzeto i prilagođeno sa <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors>.

POZITIVNI UČINCI	NEGATIVNI UČINCI
Jača kosti	Povisuje rizik za rak dojke
Snizuje LDL kolesterol	Povisuje rizik za rak maternice
Povisuje HDL kolesterol	Povisuje rizik od bolesti
Ublažava simptome menopauze	krvožilnog sustava

Korištenje HNL u žena koje su liječene zbog raka dojke svakako je najkontroverznije pitanje ovog područja. Za njega još uvijek nema jedinstvenog odgovora. Sadašnje spoznaje idu u smjeru neškodljivosti HNL-a za liječeni rak dojke (Ross i sur, 2000). Ukoliko se neškodljivost dokaže, olakšao bi se izbor liječenja i hormonske nadoknade za te pacijentice što bi poboljšavalo kvalitetu života i smanjilo rizik za urogenitalnu atrofiju i osteoporozu.

Tablica 6. Utjecaj kombiniranog nadomjesnog liječenja (estrogen i progestrin).

Preuzeto i prilagođeno sa <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors>.

POZITIVNI UČINCI	NEGATIVNI UČINCI
Jača kosti	Povisuje rizik za rak dojke
Snizuje rizik od raka debelog crijeva	Povisuje rizik od srčanog udara i
Ublažava simptome menopauze	Povisuje rizik od bolesti
	krvožilnog sustava

S obzirom na negativne utjecaje HNL radi se na pronalasku odgovarajućeg selektivnog modulatora estrogenskog receptora (SERM) za žene u menopauzi koji bi oponašao pozitivne učinke estrogena no istovremeno ne bi dovodio do navedenih negativnih učinaka. Ovim karakteristikama djelomično odgovara Raloxifen (Evista), lijek koji je odobren od strane FDA 1997. za prevenciju osteoporoze kod žena u menopauzi. Raloxifen također snižava LDL kolesterol, smanjujući rizik od srčanih bolesti i što je najvažnije ne povisuje rizik od raka dojke ili maternice (Tab. 7.) (Ross i sur. 2000).

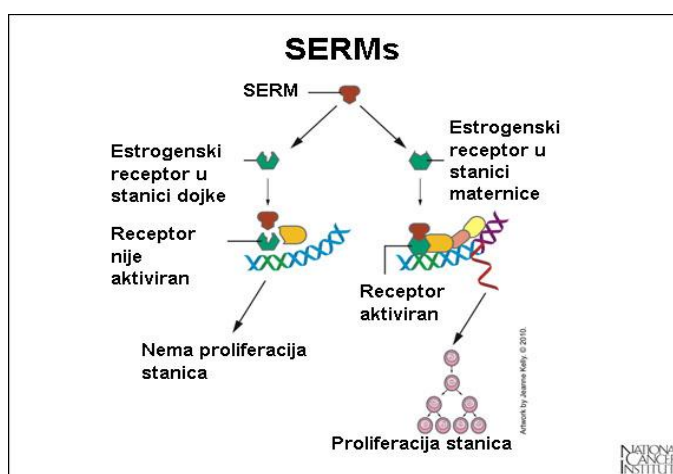
Tablica 7. Učinak Raloxifena.

Preuzeto i prilagođeno sa <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors>.

POZITIVNI UČINCI	NEGATIVNI UČINCI
Snizuje rizik od raka maternice u odnosu na tamoxifen	Ne pomaže značajno u olakšavanju simptoma menopauze
Snizuje rizik od raka dojke	Ne reducira LCIS
Jača kosti	Ne reducira DCIS
Snizuje LDL kolesterol	
Snizuje rizik od zgrušavanja krvi	

4.4. HORMONSKA KEMOPREVENCIJA I LIJEČENJE RAKA DOJKE

Budući da estrogen potiče razvoj raka dojke i maternice logično je da će sniženje razine estrogena imati pozitivan učinak u njihovoj prevenciji i liječenju. Kod žena koje nisu u menopauzi to se može postići uklanjanjem jajnika ili tretmanom analogima GnRH (Ruddon 2007). Osim toga, a osobito kod žena u menopauzi, koriste se inhibitori aromataze koji blokiraju sintezu estrogena (Santen i Harvey 1999) te supstance koje inhibiraju djelovanje estrogena putem interakcija s estrogenskim receptorima i njihovim koaktivatorima i korepresorima, a djeluju tkivno specifično (SERM) (MacGregor i Jordan 2010, Osipo i Jordan 2004). Takvi parcijalni agonisti/antagonisti su Tamoxifen i Raloxifen (Sl. 12.).

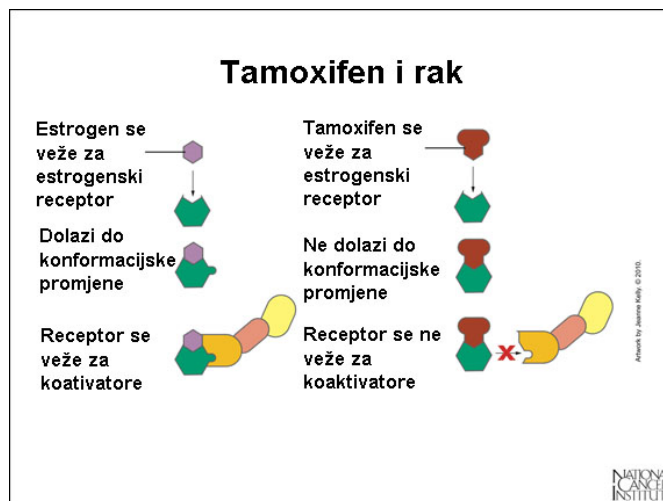


Slika 12. Djelovanje SERM-a (detaljnije objašnjeno u tekstu).

Preuzeto i prilagođeno prema <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors>.

4.4.1. TAMOXIFEN

Tkivno specifično djelovanje estrogena može biti posljedica različite ekspresije receptora, koaktivatora i korepresora, a omogućava diferencijalnu inhibiciju aktivnosti estrogena antagonistima SERM (selective receptor modulators) kao što je Tamoxifen (Sl. 12.). Ovaj lijek blokira proliferaciju stanica dojke gdje djeluje kao parcijalni antagonist, a potiče istu u endometriju maternice djelujući kao slabi agonist (MacGregor i Jordan 2010, Osipo i Jordan 2004, Schulz 2005). Tamoxifen ima mali afinitet za estrogenski receptor, no metabolizira se u jetri citokromom P450 u aktivne metabolite 4-hidroksitamoxifen i N-desmethil-4-hidroksitamoxifen koji imaju 30-100 puta veći afinitet i kompetiraju za vezanje na receptor s estrogenom. Vežući se za receptor Tamoxifen i njegovi metaboliti u tkivu dojke sprječavaju vezanje estrogena i konformacijsku promjenu koja omogućava vezanje koaktivatora te potiču vezanje korepresora na taj način sprečavajući ekspresiju gena koji potiču staničnu proliferaciju (Sl. 13.) (MacGregor i Jordan 2010).



Slika 13. Djelovanje tamoxifena na razvoj raka dojke.

Preuzeto i prilagođeno prema <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors>.

Liječenje raka dojke započinje uklanjanjem tumora nakon čega slijedi terapija adjuvansom koji sprječava rast stanica raka koje su možda zaostale u organizmu. Tamoxifen se pokazao kao učinkovit adjuvans u slučaju ER+ raka dojke (MacGregor i Jordan 2010, Schulz 2005). Također se koristi za kemoprevenciju kod žena sa visokim rizikom za razvoj raka dojke. Dokazano je da značajno smanjuje rizik od razvoja bilateralnog raka dojke (35%) (Yager i Davidson 2006). Upotreba ovog lijeka ima neke nuspojave kao što su mučnina i povraćanje, poremećaj menstrualnog ciklusa, krvi ugrušci i, najvažnije, povećani rizik od raka maternice budući da u tkivu maternice djeluje kao slab agonist estrogena (MacGregor i Jordan 2010). Fulvestrant (Faslodex) također djeluje na estrogenski receptor eliminirajući ga, a koristi se u slučajevima kada tamoxifen nema djelovanja.

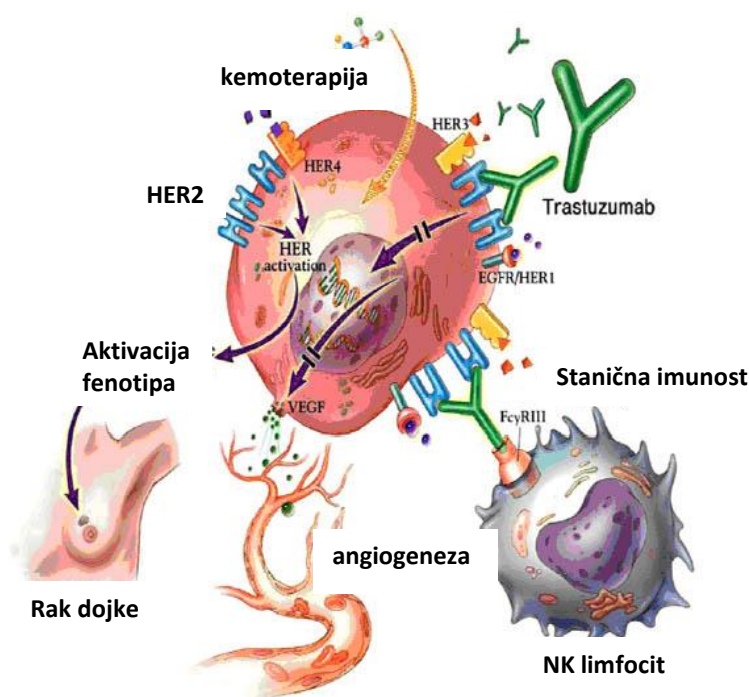
4.4.2. INHIBITORI AROMATAZE

Inhibitori aromataze, enzima koji sudjeluje u sintezi estrogena, također se koriste za sprečavanje ponovnog razvoja raka i potencijalno kao kemopreventivni agensi kod žena u menopauzi (Ruddon 2007, Santen i Harvey 1999). Za sada su odobrena tri tipa inhibitora: anastrozol (Arimidex), exemestan (Aromasin) i letrozol (Femara). Djeluju tako što sprečavanju proizvodnju malih količina estrogena koje nastaju uglavnom u masnom tkivu žena u menopauzi (Santen i Harvey 1999). Ovi lijekovi također imaju nuspojave kao što je povećan rizik od osteoporoze. Prema jednom istraživanju inhibitori aromataze učinkovitiji su u sprečavanju povratka tumora i razvoja tumora u drugoj dojci od tamoxifena (Yager i Davidson 2006).

Fenretinid je retinoid (srodan vitaminu A) koji, prema nekim studijama, također reducira rizik od raka dojke (Ruddon 2007).

4.4.3. CILJANA TERAPIJA

Trastuzumab (Herceptin) je oblik ciljane terapije koja djeluje na specifične promjene u genima koje su prisutne u stanicama raka. Radi se o monoklinalnom protutijelu koje se veže za receptor HER2/neu (HER2) koji promovira rast stanica, a nalazi se u povećanim količinama na površini stanica raka kod 1 od 5 slučajeva (Clifford 2007, Mukai 2010). HER2+ rak dojke je raste brže i agresivnije dok Trastuzumab vežući se za receptor i blokirajući prijenos signala usporava rast (Sl. 14.) i potiče imunosti sustav na obranu od raka putem stanične imunosti (Sl.14.) (Clifford 2007). Uglavnom se koristi u kombinaciji s kemoterapijom za liječenje HER2+ raka te za sprječavanje njegova povratka. Lapatinib (Tykerb) je također usmjeren protiv HER2 proteina, a daje se samo u slučaju kad trastuzumab ne djeluje (Mukai 2010).



Slika 14. Utjecaj HER2 receptora na razvoj raka dojke i pozitivan učinak Trastuzumab lijeka na suzbijanje rasta stanica i aktivaciju imunostnog sustava.

Preuzeto i prilagođeno prema <http://www.lekarzonkolog.pl/session/nowy>.

5. ZAKLJUČAK

Brojna istraživanja pokazala su jasnu povezanost raka dojke s endogenim i egzogenim steroidima, estrogenima i progesteronom, ističući izloženost estrogenima kako najvažniji rizični faktor za razvoj raka dojke. Nova otkrića vezana uz mehanizme kojima estrogen sudjeluje u inicijaciji i progresiji raka dojke omogućila su identifikaciju determinanti koje povećavaju rizik od oboljenja i razvoj novih, uspješnijih metoda detekcije, prevencije i liječenja. Posebna pažnja posvećuje se otkriću gena koji imaju ključnu ulogu u ovim mehanizmima kako bi se mogli dizajnirati lijekovi koji imaju specifično i ciljano djelovanje, a manje negativne nuspojave. Trenutno postoji nekoliko takvih lijekova, kao što su tamoxifen, raloxifen i trastuzumab čije je djelovanje objašnjeno u ovom radu, a koji se još uvijek uglavnom koriste uz standardnu kemoterapiju ili se njihov učinak ispituje kliničkim istraživanjima.

U budućnosti je potrebno iskoristiti nova saznanja i otkrića u genetici, molekularnoj biologiji i imunologiji kako bi razvili još efikasnije i manje toksične načine liječenja raka dojke. Osobito je važna detaljna klasifikacija kao ključni faktor u odabiru individualnog, najprikladnijeg načina liječenja.

6. LITERATURA

- Bolton J.L., Thatcher G.R.J., 2008. Potential Mechanisms of Estrogen Quinone Carcinogenesis. *Chem Res Toxicol* **21**, 93-101.
- Bloom, H. J., Richardson, W.W., 1957. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *British journal of cancer* **11**, 359-377.
- Cliford A.H., 2007. Trastuzumab - Mechanism of Action and Use in Clinical Practice. *N Engl J Med* **357**, 39-51.
- Fischer U., Baum F., Luftner-Nagel S., 2008. Breast imaging. Georg Thieme Verlag KG, pp: 145-198 .
- Foti E., Mancuso S. 2005. Early breast cancer detection. *Minerva Ginecol.* **57**, 269-92.
- Henderson B.E., Feigelson S.H., 2000. Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis* **21**, 427-433.
- Karihtala P., Soini Y., 2007. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *Apmis* **115**, 81-103.
- Korach K.S., Hillisch A., Fritzemeier K.H., 2004. New molecular mechanisms of estrogen action and their impact on future perspectives in estrogen therapy. Springer, cop.
- Kopans 2007. Breast imaging. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer Business, pp: 7-121; 199-219.
- MacGregor J.I., Jordan V.C. 1998. Basic guide to the mechanisms of antiestrogen action. *Pharmacol Rev.* **50**, 151-96.
- Malins D.C., Anderson K.M., Jaruga C.R., Gilman N.K., Green V.M., Rostad S.W., Emerman J.T., Dizdaroglu M., 2006. Oxidative changes in the DNA of stroma and epithelium from the female breasts: potenital implications for breast cancer. *Cell Cycle* **5**, 1629-1632.
- Margaritoni M., 1993. Rak dojke. 1. izd. Školska knjiga, Zagreb.
- Melchor L., Benitez J., 2008. An integrative hypthesis about the origin and development of sporadic and familial breast cancer subtypes. *Carcinogenesis* **29**, 1475-1482.
- Mukai H. 2010. Targeted therapy in breast cancer: current status and future directions. *Jpn J Clin Oncol.* **40**, 711-716.
- Oettel M., Schillinger E., 1999. Estrogens and antiestrogens 1. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Okahashi Y., Iwamoto T., Suzuki N., Shibutani S., Sugiura S., Itoh S., Nishiwaki T., Ueno S., Mori T., 2010. Quantitative detection of 4-hydroxyequilenin-DNA adducts in mammalian

- cells using an immunoassay with a novel monoclonal antibody. *Nucleic Acids Research* **38**.
- Osipo C. i Jordan C.V., 2004. Encyclopedia of Endocrine Diseases, Volume 4. Elsevier Inc., pp. 221.
- Ross R.K., Paganini-Hill A., Wan P.C., Pike M.C., 2000. Effect of Hormone Replacement Therapy on Breast Cancer Risk: Estrogen versus Estrogen Plus Progestin.
- Ruddon R.W., 2007. Cancer biology. Oxford University Press, Inc.
- Ruder E., Dorgan J.F., Kranz S., Kris-Etherton P.M., Hartman T.J., 2008. Examining breast cancer growth and lifestyle risk factors. *Clin Breast Cancer* **8**, 334-342.
- Russo J, Hasan Lareef M., Balogh G., Guo S., Russo I.H., 2003. Estrogen and its metabolites are carcinogenic agents in human breast epithelial cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **87**, 1-25.
- Scarff, R.W., Torloni, H., 1968. International Histological Classification of Tumours No.2. Histological Typing of Breast Tumours, WHO, Geneva.
- Schnitt S.J., 2010. Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy. *Modern Pathology* **23**, S60-S64.
- Schulz W.A., 2005. Molecular Biology of Human Cancers. Springer Science + Business Media, Inc, pp. 357-382.
- Stenkvist B., Bengtsson E., Eriksson O., Jarkrans T., Nordin B., Westman-Naeser S., 1983. Histopathological systems of breast cancer classification: reproducibility and clinical significance. *J Clin Pathol* **36**, 392-398.
- Yager J.D., Davidson N.E., 2006. Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer. *N Engl J Med* **354**, 270-282.
- Wolff M.S. i Weston A. 1997. Breast cancer risk and environmental exposures. *Environ Health Perspect.* **105**, 891-896.
- Sobin L., Gospodarovicz M., Wittekind C., 2010. TNM Classification of Malignant Tumours - 7th edition. Blackwell Publishing Ltd.

INTERNET:

<http://www.breastcancer.org/>

<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003090-pdf.pdf>

<http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast>

<http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors>

<http://www.cancerstaging.org/index.html>

<http://www.nih.gov/>

http://www.hzjz.hr/rak_index.htm

<http://www.uicc.org/>

7. SAŽETAK

Rak dojke je, uz rak pluća i rak debelog crijeva, najčešća i najsmrtonosnija vrsta raka koja pogađa uglavnom žensku populaciju razvijenih zemalja, osobito žene u menopauzi (iznad 50 godina). Rak dojke nastaje kada normalne epitelne (karcinom) ili žljezdane (adenokarcinom) stanice dojke promijene svoja svojstva te počnu nekontrolirano rasti, umnožavati se i uništavati okolno zdravo tkivo. Postoji nekoliko sustava klasifikacije raka dojke, prema različitim kriterijima: histopatologija, stupanj diferenciranosti (gradus tumora), stadij tumora, status receptora. Histopatološka podjela uključuje neinvazivne i invazivne karcinome. Na površini stanica 70% vrsta raka dojke se nalaze receptori za estrogen (ER+), progesteron (PR+) i HER2/neu (HER2+). Tri skupine genetičkih, endokrinih i okolišnih čimbenika povezane su s razvojem raka dojke. Čak 80% slučajeva uzrokovano nasljednim promjenama povezano je sa mutacijama u genima BRCA1 i BRCA2. Najvažnije okolišni čimbenik je izloženost estrogenu (ranija menarha i kasnija menopauza, mali broj poroda i kasna dob pri rađanju prvog djeteta). Brojna istraživanja bave se povezanošću raka dojke s endogenim i egzogenim steroidima, estrogenima (estron, estradiol i estriol) i progesteronom. Predložena su dva mehanizma djelovanja koja vjerojatno djeluju sinergistički u procesima inicijacije i progresije raka dojke. Osim proliferativnog modela prema kojem poticanjem stanične proliferacije u tkivu dojke estrogeni omogućavaju nastanak mutacija koje promoviraju razvoj raka, utvrđen je i mutageni učinak estrogena kao posljedica genotoksičnosti estrogena i njegovih metabolita. Izrazito zanimanje i raspravu potiče pitanje o utjecaju egzogenih hormona, kao što je oralna kontracepcija (OK) te hormonsko nadomjesno liječenje (HNL). Dokazano je kako antiestrogeni (SERM) kao što su tamoxifen, raloxifen i inhibitori aromataze smanjuju učestalost raka dojke.

8. SUMMARY

Breast cancer is, along with lung and colon cancer, the most common type of cancer that affects mostly the female population in developed countries, especially menopausal women (over 50 years old). Breast cancer occurs when epithelial (carcinoma) or glandular (adenocarcinoma) breast cells change their properties and start to grow uncontrollably and destroy surrounding healthy tissue. There are several classification criteria: histopathology, grading, tumor stage, receptor status. Histopathologic classification includes non-invasive and invasive cancers. Around 70% of breast cancers have estrogen receptors (ER+) as well as progesterone receptor (PR+) and HER2/neu (HER2+) on the cell surface. Three groups of genetic, endocrine and environmental factors are associated with the development of breast cancer. In 80% of hereditary breast cancers the main cause are genetic changes in genes BRCA1 and BRCA2. The most important environmental factor is exposure to estrogen (earlier menarche and later menopause, low parity and late age at birth of first child). Numerous studies are dealing with estrogen carcinogenesis in breast cancer. There are two mechanisms of estrogen action proposed which probably act synergistically when promoting initiation and progression of breast cancer. Estrogen promotes cell proliferation in breast tissue which allows mutations and cancer development. Also, estrogen and its metabolites are genotoxic. The impact of exogenous hormones, such as oral contraceptives and hormone replacement therapy is of special interest. It has been shown that anti-estrogens (SERMs) such as tamoxifene, raloxifene and aromatase inhibitors reduce the incidence of breast cancer.